

## Сопоставление эффективности методов ГЖХ и ВЭЖХ при дифференциации растительных масел, содержащих изомеры октадекатриеновых кислот

В.И. Дейнека<sup>1\*</sup>, А.В. Туртыгин<sup>2</sup>, Л.А. Дейнека<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Победы, 85

<sup>2</sup>Лаборатория качества ООО «Городской супермаркет», 211170, Москва, Кутузовский проспект, 36, стр. 6.

\*Адрес для переписки: Дейнека Виктор Иванович, E-mail: [deineka@bsu.edu.ru](mailto:deineka@bsu.edu.ru)

Поступила в редакцию 2 октября 2016 г., после исправления – 22 октября 2016 г.

В работе сопоставлена эффективность метода газохроматографического анализа метиловых эфиров, полученных из растительных масел (I) и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии триацилглицеринов (ТАГ) (II) для дифференциации четырех масел, в состав которых входят радикалы четырех изомерных не сопряженных октадекатриеновых (C18:3) высших жирных кислот. Показано, что в методе I удерживание метиловых эфиров изомерных C18:3 кислот возрастает в ряду:  $\gamma$ -линоленовая (C18:3<sup>6Z9Z12Z</sup>) – пиноленовая (C18:3<sup>5Z9Z12Z</sup>) – колумбиновая (C18:3<sup>5E9Z12Z</sup>) –  $\alpha$ -линоленовая (C18:3<sup>9Z12Z15Z</sup>) кислоты. Для эфиров рассчитаны эквивалентные углеродные числа (ЭУЧ) по шкале удерживания насыщенных жирных кислот. Показано, что метод I позволяет надежно дифференцировать масла с  $\alpha$ -линоленовой,  $\gamma$ -линоленовой и пиноленовой (или колумбиновой) кислотами, тогда как дифференциация масел, образованных пиноленовой и колумбиновой кислотами, требует тщательного контроля времен удерживания. Метод II позволяет дифференцировать масла со всеми четырьмя изомерами C18:3-кислот, поскольку инкременты для замены линолевой кислоты на указанные октадекатриеновые последовательно различаются на величину, позволяющую проводить надежную дифференциацию. При этом порядок удерживания однотипных ТАГ в методе II отличается от порядка элюирования метиловых эфиров в методе I, возрастая в ряду:  $\alpha$ -линоленовая –  $\gamma$ -линоленовая – пиноленовая – колумбиновая кислоты.

**Ключевые слова:** ГЖХ, обращенно-фазовая ВЭЖХ, метиловые эфиры жирных кислот, триацилглицерины, параметры удерживания, изомеры октадекатриеновых кислот

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2016, vol. 20, no. 4, pp. 314-319

DOI: 10.15826/analitika.2016.20.4.002

## GC and HPLC methods' effectiveness comparison for the differentiation of seed oils containing moieties of the isomeric octadecatrienoic acids

Victor I. Deineka<sup>1\*</sup>, Alexander V. Turtygin<sup>2</sup>, Liudmila A. Deineka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Belgorod National Research University, Institute of Engineering Technology and Natural Science, Pobeda ul. 85, Belgorod, 308015, Russian Federation

<sup>2</sup>Laboratory quality of LLC "City supermarket", 121170, Moscow, Kutuzovsky prosp., 36, build. 6.

\*Corresponding author: Victor I. Deineka, E-mail: [deineka@bsu.edu.ru](mailto:deineka@bsu.edu.ru)

Submitted 02 October 2016, received in revised form 22 October 2016

The comparison of the effectiveness of the methods of gas chromatographic (GC) analysis of methyl esters derived from seed oils (I) and reversed-phase high-performance liquid chromatography of native triacylglycerols (TAG) (II) for the differentiation of four oils, which include moieties of four isomeric octadecatrienoic not-conjugated fatty acids, was investigated. It was shown that in method I the retention of methyl esters of isomeric C18:3 acids increases in the following order:  $\gamma$ -linolenic (C18:3<sup>6Z9Z12Z</sup>) – pinolenic (C18:3<sup>5Z9Z12Z</sup>) – colum-

binic (C18:3<sup>5E9Z12Z</sup>) –  $\alpha$ -linolenic (C18:3<sup>9Z12Z15Z</sup>). For the esters the equivalent carbon numbers (ECN) were calculated on a scale of the saturated fatty acids retention. It was shown that the method I can reliably differentiate oils with  $\alpha$ -linolenic,  $\gamma$ -linolenic and pinolenic (or columbinic) acids, whereas the differentiation of oils containing pinolenic and columbinic acid moieties requires careful control of the retention times. Method II allowed differentiating oils of all four isomeric C18:3 acids because the increment for the replacement of linoleic acid by these octadecatrienoic acids sequentially varies by the magnitude allowing for the reliable differentiation. The order of retention of the same types of TAG in method II differs from the order of elution of methyl esters in method I. TAGs retention increased in the following order:  $\alpha$ -linolenic –  $\gamma$ -linolenic – pinolenic – columbinic acids.

**Keywords:** GLC, reverse phase HPLC, fatty acids methyl esters, triacylglycerols, retention parameters, isomeric octadecatrienoic acids.

## Введение

При определении качества, установлении подлинности или при обнаружении фальсификации растительных или животных масел в РФ официально полагается использование ГОСТ 30418-96, ГОСТ Р 51483-99 и ГОСТ 30623-98, позволяющих определить так называемый жирнокислотный состав масел, т.е. состав жирных кислот, радикалы которых образуют сложные эфиры (СЭ) – триацилглицерины (ТАГ), диацилглицерины (ДАГ) и моноацилглицерины (МАГ) исследуемого образца. Для определения жирнокислотного состава исходный образец обрабатывают раствором метилата натрия в метаноле для получения метиловых эфиров кислот, входивших в состав СЭ исследуемого масла, с последующим определением продуктов методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ). При очевидной важности жирнокислотного состава следует отметить, что метод не всегда является надежным, поскольку при этом, во-первых, возможны потери некоторых кислот [1], и, во-вторых, теряется информация о распределении радикалов по видам ТАГ, что может привести к ошибкам как в определении жирнокислотного состава, так и при установлении подлинности образцов. Отметим также, что разделение позиционных или *цис-транс*-изомеров может быть серьезной хроматографической проблемой. Так, согласно ГОСТ Р 51483-99, методом ГЖХ метиловых эфиров дифференцируют насыщенные от ненасыщенных высших жирных кислот лишь в зависимости от числа двойных связей. Но, например, в маслах доступных в Российской Федерации семян растений: льна (*Linum L.*), огуречной травы (*Borago officinalis L.*), «кедрового ореха» (таким именем называют семена не относящейся к кедром сосны сибирской, *Pinus sibirica* Du Tour) и водосбора (*Aquilegia vulgaris L.*) обнаруживаются радикалы четырех различных изомеров октадекатриеновой кислоты с различной биологической активностью:  $\alpha$ -линоленовая (C18<sup>9Z,12Z,15Z</sup>) [2],  $\gamma$ -линоленовая (C18<sup>6Z,9Z,12Z</sup>) [3], пиноленовая (C18<sup>5Z,9Z,12Z</sup>) [4] и колумбиновая (C18<sup>5E,9Z,12Z</sup>) [5] (в надстрочных индексах указано положение двойной связи и ее тип: Z – *цис*-, а E – *транс*-конфигурации). Вероятно, что вследствие указанных сложностей в работе [6] в масле кедровых орехов методом ГЖХ метиловых эфиров найдено чуть более 13 % некоторой линоленовой кислоты без уточнения ее строения. А в

другой работе [7], в которой также использовали ГЖХ метиловых эфиров, утверждается о присутствии в масле кедрового ореха в качестве основной октадекатриеновой кислоты  $\alpha$ -линоленовой кислоты, и в дополнение к ней сообщается об обнаружении уникальной 10Z,13Z-октадекадиеновой кислоты (около 46 %!). При этом в работе [8] с применением ГЖХ метода определения метиловых эфиров и ЯМР-спектроскопии исходного масла был сделан вывод о присутствии в качестве основной октадекатриеновой уже  $\gamma$ -линоленовой кислоты с небольшими добавками пиноленовой, и  $\alpha$ -линоленовой кислот, хотя наши исследования масел большого числа видов хвойных растений [9] показали присутствие в них именно пиноленовой кислоты.

В связи с разночтениями в научной литературе по жирнокислотному составу масла кедрового ореха была определена цель настоящей работы – оценка эффективности двух хроматографических методов – ГЖХ метиловых эфиров жирных кислот превращенных масел и обращенно-фазовой ВЭЖХ исходных триацилглицеринов (ТАГ) в дифференциации масел семян растений, образованных четырьмя различными изомерами октадекатриеновых кислот.

## Экспериментальная часть

Масла получали экстракцией ацетоном из размолотых семян растений, приобретенных на рынке («кедровые» орехи) или в магазинах для садоводов-любителей. Метиловые эфиры получали по ГОСТ 30418-96.

Для определения эфиров методом ГЖХ использовали газовый хроматограф TRACE 1310 (Thermo Scientific) с масс-селективным детектором TSQ 8000. В работе использовали капиллярную колонку 30MX0.25MMID SOLGEL-WAX 0.25UM (длина колонки 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм, толщина слоя жидкой фазы 0.25 мкм). Температурный режим: 1) изотермический – 40 °C (выдержка 2 минуты); 2) градиентный – нагрев 15 °C/мин. до 210 °C; 3) изотермический – 210 °C (выдержка 3 минуты); 4) градиентный – нагрев 5 °C/мин. до 240 °C; 5) изотермический – 240 °C (выдержка 5 минуты). Газ-носитель азот (N<sub>2</sub>), объемная скорость 1 мл/мин., сброс 10 : 1. Температура испарителя 240 °C, объем вводимой пробы 1 мкл. Ионизация электронами (ИЭ) с энергией 70 эВ, температура источника электронов

(катода) 200 °С, температура лайнера 240 °С. Хроматограммы регистрировали, хранили и обрабатывали, используя ПО Xcalibr и NIST MS search 2.2.

Для разделения триацилглицеринов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ использовали Agilent 1200 (до детектора), детектор рефрактометрический RI 401 (Waters). Хроматографическая колонка 250×4 мм Диасфер 110 C18, 5 мкм. Все хроматограммы записывали в изократическом режиме при температуре термостата колонок 30 °С. Подвижные фазы готовили смешиванием ацетонитрила (for UV, IR, HPLC, ACS, PanReac) и ацетона («ч.д.а.», Реахим) в заданном соотношении, фильтровали под вакуумом на капроновых фильтрах с диаметром пор 0.45 мкм, скорость подачи подвижной фазы 0.8 мл/мин. Хроматограммы записывали, хранили и обрабатывали, используя ПО Мультихром 1.5.

ТАГ обозначали стандартным образом, например, ЛНЛО – соединение, содержащее радикалы октадекатриеновой (ЛН), линолевой (Л) и олеиновой (О) кислот без обозначения их положения в молекуле, поскольку удерживание от этой характеристики не зависит. Иные кислоты: пальмитиновая – П, стеариновая – С.

## Результаты и их обсуждение

### 1. ГЖХ метиловых эфиров

Фрагмент хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот льняного масла представлен на рис. 1. На нем обнаруживаются метиловые эфиры (строение подтверждено анализом масс-спектров и сравнением удерживания со стандартными образцами) пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и α-линоленовой кислот.

Для масла семян огуречной травы, кедровых орехов и аквилегии были записаны хроматограммы в идентичных условиях. Каждую из хроматограмм записывали по три раза, оценивая разброс времен удерживания метиловых эфиров (табл. 1).

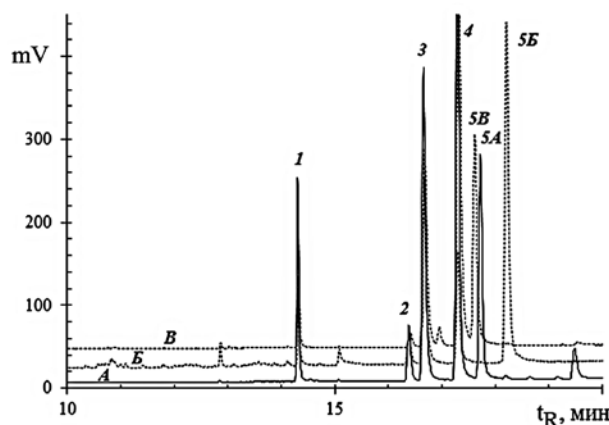


Рис. 1. Разделение метиловых эфиров жирных кислот, полученных из растительных масел методом ГЖХ. Масла: А – семян бораго, Б – семян льна, В – кедрового ореха. Метиловые эфиры кислот: 1 – пальмитиновой, 2 – стеариновой, 3 – олеиновой, 4 – линолевой, 5А – γ-линоленовой, 5Б – α-линоленовой, 5В – пиноленовой

Fig.1. Separation of methyl esters of fatty acids prepared on the basis of plant oils by GC. Oils from: A – borage seeds, Б – flax seeds, В – *Pinus siberica* seeds. Methyl esters of 1 – palmitic, 2 – stearic, 3 – oleic, 4 – linoleic, 5A – γ-linolenic, 5Б – α-linolenic, 5В – pinolenic acids

Из представленных данных следует, что метиловый эфир α-линоленовой кислоты имеет наибольшее удерживание среди четырех изомерных C18:3 кислот. Его время удерживания существенно и достоверно отличается от времени удерживания метилового эфира γ-линоленовой кислоты, поэтому дифференциация в данном случае осуществляется легко (рис. 1). Разность в удерживании метиловых эфиров γ-линоленовой и пиноленовой кислот хоть и невелика (порядка 0.1 минуты), но также достаточна для дифференциации этих кислот методом ГЖХ (рис. 1). Но из-за небольшого различия в удерживании дифференциация эфиров пиноле-

Таблица 1

Времена удерживания метиловых эфиров высших жирных кислот четырех масел в условиях ГЖХ

Table 1

GC retention times of four oils fatty acids' methyl esters

Название кислоты	Строение	ЭУЧ*	Времена удерживания метиловых эфиров жирных кислот $t_R$ (± 0.02 мин) для масел семян:			
			льна	бораго	кедрового ореха	аквилегии
Пальмитиновая	C16:0	16	14.32	14.30	14.33	14.32
Стеариновая	C18:0	18	16.39	16.38	16.41	16.40
Олеиновая	C18:1 <sup>9Z</sup>	18.16	16.66	16.66	16.68	16.68
Линолевая	C18:2 <sup>9Z12Z</sup>	18.68	17.29	17.29	17.32	17.31
α-Линоленовая	C18:3 <sup>9Z12Z15Z</sup>	19.37	18.21	Нет	Нет	Нет
γ-Линоленовая	C18:3 <sup>6Z9Z12Z</sup>	19.01	Нет	17.22	Нет	Нет
Пиноленовая	C18:3 <sup>5Z9Z12Z</sup>	18.91	Нет	Нет	17.61	Нет
Колумбиновая	C18:3 <sup>5E9Z12Z</sup>	18.96	Нет	Нет	Нет	17.64

Примечание: ЭУЧ – эквивалентные углеродные числа.

новой и колумбиновой кислот в использованных в работе условиях проблематична, т.е. *цис-транс*-изомеризация двойной связи в положении 5 мало сказывается на параметрах удерживания.

Для распознавания строения октадекатриеновых кислот по удерживанию их метиловых эфиров в методе ГЖХ в работе определено ЭУЧ (эквивалентное углеродное число [13]) кислот (табл. 1), которое рассчитывали по уравнению:

$$\text{ЭУЧ}(i) = 31.62 \cdot \lg t_{\text{R}}(i) - 20.47. \quad (1)$$

Для построения градуировочного графика использовали десятичные логарифмы времен удерживания высших жирных кислот от C16:0 до C24:0, достаточно надежно описываемые прямой линией ( $R^2 = 0.9995$ ); при этом при включении в градуировочную смесь кислот с меньшей длиной цепи  $R^2$  несколько уменьшался (например, до 0,9989 при добавлении метилового эфира C15:0 кислоты).

## 2. Обращенно-фазовая ВЭЖХ исходных масел

Особенность ВЭЖХ растительных масел состоит в том, что необходимо добиться разделения большого числа ТАГ, в построении которых принимают участие все кислоты. Так, если масло образовано пятью различными высшими жирными кислотами, то число различных комбинаций радикалов этих кислот в ТАГ без дифференциации позиционных изомеров составит 35 (в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ позиционные изомеры практически не разделяются), а с дифференци-

цией – 125. Соответственно, на хроматограммах появляется много пиков, и разделение некоторых из них становится довольно сложной проблемой – существуют трудно разделяемые «проблемные» пары ТАГ [10]. С другой стороны, для многих кислот распределение их радикалов по позициям в глицерине не является равновероятным. Поэтому, соотношение между площадями пиков некоторых ТАГ является очень важной характеристикой конкретного масла, которое может быть использовано при оценке подлинности, или для достоверного установлении фальсификации [11].

Наиболее простая хроматограмма ТАГ получается для масла семян аквилегии (рис. 2), состав ТАГ которого легко расшифровывается с использованием инкрементного подхода [15], по которому выполняется простое соответствие:

$$\lg k(\text{ABY}) - \lg k(\text{ABX}) = \Delta(\text{X} \rightarrow \text{Y}) \quad (2)$$

где ABY и ABX – ТАГ, содержащие радикалы двух попарно одинаковых кислот, и происходит замена радикалов третьей кислоты (X на Y). При этом инкремент  $\Delta(\text{X} \rightarrow \text{Y})$  в первом приближении не зависит от типа остальных радикалов (см. табл. 2).

Для остальных трех масел получены несколько более сложные хроматограммы, содержащие большее количество ТАГ с большим удерживанием, кроме того, далеко не во всех из них обнаруживаются те же типы ТАГ, что и в масле аквилегии. Так, на хроматограмме масла семян бораго компонент  $\text{Ln}_3$  среди минорных пиков может быть найден скорее по инкрементному подходу, чем напрямую (рис. 3). В масле семян кедрового ореха пик  $\text{Ln}_3$  вообще

Таблица 2

Параметры удерживания ТАГ масла семян аквилегии в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ в подвижной фазе 40 об. % ацетонитрила и 60 об. % ацетона (0.8 мл/мин)

Table 2

RP HPLC retention parameters of *Aquilegia* seed oil triacylglycerols in mobile phase of 40 vol. % of acetonitrile and 60 vol. % of acetone (0.8 ml/min)

№ п/п	Вид ТАГ	$t_{\text{R}}$ , мин	$\lg k(i)$	Инкременты для замен радикалов:			
				$\Delta(\text{Ln} \rightarrow \text{Ln})$	$\Delta(\text{Ln} \rightarrow \text{O})$	$\Delta(\text{O} \rightarrow \text{P})$	$\Delta(\text{P} \rightarrow \text{C})$
1	$\text{Ln}_3^*$	12.95	0.524	-	-	-	-
2	$\text{Ln}_2\text{L}$	14.60	0.591	0.067	-	-	-
3	$\text{LnL}_2$	16.56	0.659	0.068	-	-	-
4	$\text{Ln}_2\text{O}$	18.20	0.708	-	0.117	-	-
5	$\text{Ln}_2\text{P}$	18.93	0.729	-	-	0.020	-
6	$\text{L}_3^{**}$	18.81	0.725	0.067	-	-	-
7	$\text{LnLO}$	20.82	0.777	0.069	0.118	-	-
8	$\text{LnLP}$	21.71	0.798	-	-	0.021	-
9	$\text{Ln}_2\text{C}$	23.76	0.843	-	-	-	0.115
10	$\text{LnO}_2$	26.43	0.896	-	0.119	-	-
11	$\text{LnOP}$	27.46	0.915	-	-	0.019	-
Среднее значение:				$0.068 \pm 0.001$	$0.118 \pm 0.001$	$0.020 \pm 0.001$	-

Примечания: \*  $\text{Ln}$  – C18:3<sup>5E,9Z,12Z</sup>, \*\* – расчетное значение.

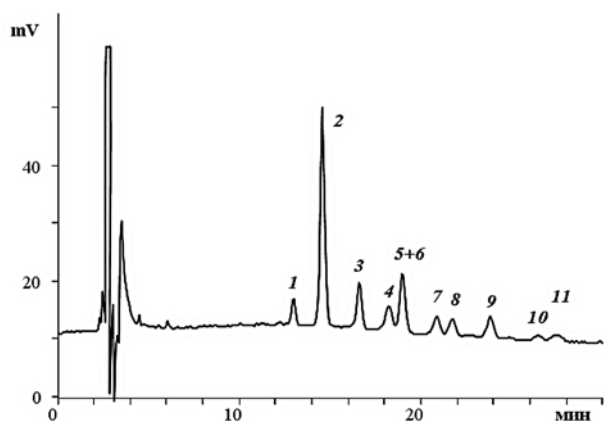


Рис. 2. Разделение триацилглицеринов масла семян аквилегии методом ВЭЖХ Колонка: 250×4 мм Диасфер 110-C18, 5 мкм, температура 30 °С, подвижная фаза 40 об. % ацетонитрила, 60 об. % ацетона, 1 мл/мин. Отнесение пиков – в табл. 2

Fig. 2. Separation of *Aquilegia* seed oil triacylglycerols by HPLC. Column: 250×4 mm Diasphere 110-C18, 5 mcm, temperature 30 °C, mobile phase 40 vol. % acetonitrile, 60 vol. % acetone, 1 ml/min. For peak identification see Table 2

отсутствует, более того, даже пик  $\text{Ln}_2\text{L}$  относится к минорным компонентам. При этом удерживание всех ТАГ, содержащих  $\gamma$ -линоленовую кислоту существенно меньше, чем удерживание аналогичных ТАГ с колумбиновой кислотой, но больше, чем ТАГ с  $\alpha$ -линоленовой кислотой. Время удерживания однотипных ТАГ с пиноленовой кислотой меньше, чем с колумбиновой, и различие в их удерживании является наименьшим, но достаточным для дифференциации (табл. 3).

Следовательно, в обращенно-фазовой хроматографии селективность разделения ТАГ, содержащих радикалы четырех изомерных октадекатриеновых кислот, достаточна для их дифференциации. При этом, разумеется, с ростом числа радикалов таких кислот в ТАГ различие в удерживании однотипных ТАГ увеличивается (рис. 4). При использова-

Таблица 3

Сопоставление удерживания однотипных ТАГ четырех изомерных октадекатриеновых кислот в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ

Table 3

Retention comparison of the same triacylglycerol types with isomeric octadecatrienoic acids in RP HPLC

№ п/п	ТАГ	$t_R$ , мин ТАГ с изомерными кислотами:			
		C18:3 <sup>8Z12Z15Z</sup>	C18:3 <sup>6Z9Z12Z</sup>	C18:3 <sup>5Z9Z12Z</sup>	C18:3 <sup>5E9Z12Z</sup>
1	$\text{Ln}_3$	10.67	11.60	12.36	12.95
2	$\text{Ln}_2\text{L}$	12.80	13.51	14.15	14.60
3	$\text{LnL}_2$	15.50	15.87	16.28	16.56
	$\Delta(\text{L}-\text{H} \rightarrow \text{L})^*$	0.105	0.088	0.076	0.068

Примечания: \* – в подвижной фазе 40 об. % ацетонитрила и 60 об. % ацетона.

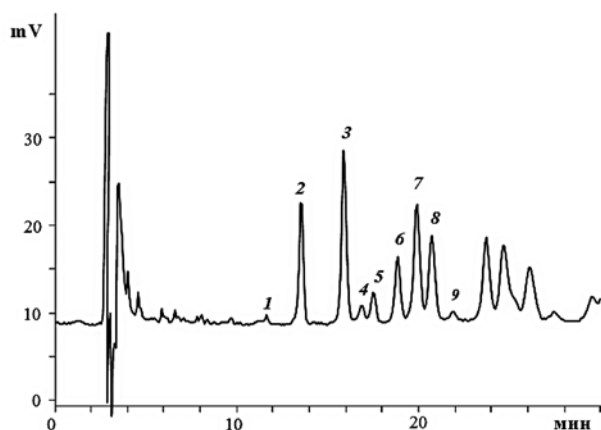


Рис. 3. Разделение триацилглицеринов масла семян борago методом ВЭЖХ Колонка: 250×4 мм Диасфер 110-C18, 5 мкм, температура 30 °С, подвижная фаза 40 об. % ацетонитрила, 60 об. % ацетона, 1 мл/мин. Отнесение пиков – в табл. 2

Fig. 3. Separation of borage seed oil triacylglycerols by HPLC Column: 250×4 mm Diasphere 110-C18, 5 mcm, temperature 30 °C, mobile phase 40 vol. % acetonitrile, 60 vol. % acetone, 1 ml/min. For peak identification see Table 2

нии данного метода и *цис-транс*-изомеризация (на примере перехода от пиноленовой к колумбиновой кислотам) более заметно сказывается на удерживании соединений по сравнению с определением метиловых эфиров жирных кислот методом ГЖХ.

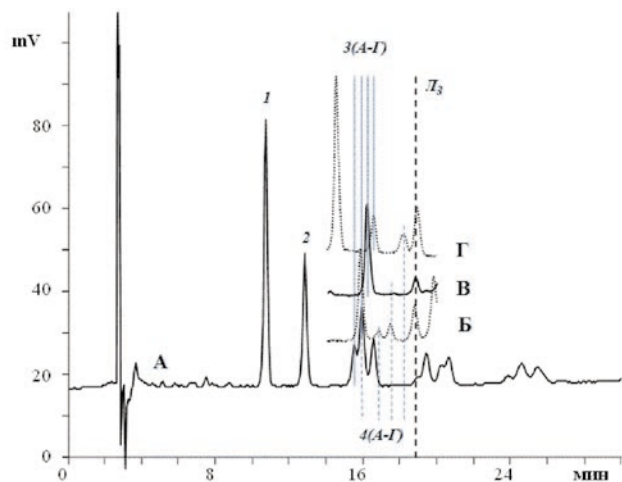


Рис. 4. Сопоставление удерживания ТАГ  $\text{LnL}_2$  (3) и  $\text{Ln}_2\text{O}$  (4) в четырех маслах: А – льняное, Б – семена борago, В – кедровых орехов, Г – семена аквилегии. Колонка: 250×4 мм Диасфер 110-C18, 5 мкм, температура 30 °С, подвижная фаза 40 об. % ацетонитрила, 60 об. % ацетона, 1 мл/мин. Отнесение пиков – в табл. 2

Fig. 4. Comparison of triacylglycerols  $\text{LnL}_2$  (3) and  $\text{Ln}_2\text{O}$  (4) retention TAGs of four oils: A – flax seeds, Б – borage seeds, В – *Pinus sibirica* seeds, Г – *Aquilegia* seeds. Column: 250×4 mm Diasphere 110-C18, 5 mcm, temperature 30 °C, mobile phase 40 vol. % acetonitrile, 60 vol. % acetone, 1 ml/min. For peak identification see Table 2

## Литература

1. An Alternative Method for the Calculation of Equivalent Chain Length or Carbon Number of Fatty Acid Methyl Esters in Gas Chromatography / K. Krisnangkura [et al.] // J. Chromatogr. Sci. 1997. V. 35. P. 329-332.
2. High alpha-linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans / S.C. Cunnane [et al.] // Br. J. Nutr. 1993. V. 69. P. 443-53.
3. Kapoor R., Huang Y.S. Gamma linolenic acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid // Curr. Pharm. Biotechnol. 2006. V. 7. P. 531-534.
4. Lee A.R., Han S.N. Pinolenic Acid Downregulates Lipid Anabolic Pathway in HepG2 Cells // Lipid. 2016. V. 51. P. 847-855.
5. An unusual desaturase in *Aquilegia vulgaris* / A.J. Longman [et al.] // Biochem. Soc. Trans. 2000. V. 28. P. 641-643.
6. Ефремов А.А. Перспективы малотоннажной переработки кедровых орехов в продукты пищевого и технического назначения // Химия растительного сырья. 1998. № 3. С. 83-86.
7. Zadernowski R., Naczek M., Czaplicki S. Chemical composition of *Pinus sibirica* nut oils // Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2009. V. 111. P. 698-704.
8. NMR Analysis of oils from pine nuts (*Pinus sibirica*) and seeds of common pine (*Pinus silvestris* L.) / E.D. Skakovskii [et al.] // J. Appl. Spectroscopy. 2007. V. 74. P. 584-588.
9. Триглицериды масел семян некоторых хвойных растений / В.И. Дейнека [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. 2007. № 5(36), Вып. 5. С. 129-133.
10. Podlaha O., Toregerd B. A System for Identification of Triglycerides in Reversed Phase HPLC Chromatograms Based on Equivalent Carbon Numbers // J. HRC & CC. 1982. V. 5. P. 553-558.
11. Использование обращенно-фазовой ВЭЖХ в установлении подлинности жиров и масел / В.И. Дейнека [и др.] // Заводская лаборатория. 2008. Т. 74, № 3. С. 15-19.
12. Инкрементный подход при определении состава триглицеридов / В.И. Дейнека [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 2002, Т. 36, № 7. С. 44-47.
2. Cunnane S.C., Ganguli S., Menard C., Liede A.C., Hamadeh M.J., Chen Z.Y., Wolever T.M., Jenkins D.J. High alpha-linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans. *British Journal of Nutrition*, 1993. vol. 69, pp. 443-453. DOI: 10.1079/BJN19930046
3. Kapoor R., Huang Y.S. Gamma linolenic acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2006. vol. 7. pp. 531-534. DOI: 10.2174/138920106779116874
4. Lee A.R., Han S.N. Pinolenic Acid Downregulates Lipid Anabolic Pathway in HepG2 Cells. *Lipids*, 2016, vol. 51, pp. 847-855. DOI: 10.1007/s11745-016-4149-6
5. Longman A.J., Michaelson L.V., Sayanova O., Napier J.A., Stobart A.K. An unusual desaturase in *Aquilegia vulgaris*. *Biochemical Society Transactions*, 2000, vol. 28, pp. 641-643. DOI: 10.1042/bst0280641.
6. Efremov A.A. [Prospects for small-scale processing of pine nuts in food and technical purposes]. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia* [Vegetable raw materials chemistry], 1998, no. 3, pp. 83-86 (in Russian).
7. Zadernowski R., Naczek M., Czaplicki S. Chemical composition of *Pinus sibirica* nut oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2009, vol. 111, pp. 698-704. DOI: 10.1002/ejlt.200800221.
8. Skakovskii E.D. Tychinskaya L.Yu., Gaidukevich O.A., Klyuev Yu., Kulakova N., Petlitskaya N.M., Rykove S.V. NMR Analysis of oils from pine nuts (*Pinus sibirica*) and seeds of common pine (*Pinus silvestris* L.). *Journal of Applied Spectroscopy*, 2007, vol. 74, pp. 584-588. DOI: 10.1007/s10812-007-0092-x
9. Dejneka V.I., Efimova I.S., Turtygin A.V., Sorokopudov V.N. [The triglyceride oils of the seeds of some conifers]. *Nauchnye vedomosti BelGU. Seriya: Estestvennye nauki* [Belgorod State University Scientific bulletin. Natural Sciences], 2007, № 5(36), vol. 5. pp. 129-133 (in Russian).
10. Podlaha O., Toregerd B. A System for Identification of Triglycerides in Reversed Phase HPLC Chromatograms Based on Equivalent Carbon Numbers. *Journal of Separation Science*, 1982, vol. 5, pp. 553-558. DOI: 10.1002/jhrc.1240051007.
11. Dejneka V.I., Dejneka L.A., Anisimovich I.P., Peristyj V.A., Turtygin A.V. [The use of reversed-phase HPLC in the identification of fats and oils]. *Zavodskaja laboratorija. Diagnostika materialov* [Industrial Laboratory. Materials Diagnostics], 2008, vol. 74, No. 3, pp. 15-19 (in Russian).
12. Dejneka V.I., Staroverov V.M., Fofanov G.M., Balyatinskaya L.N. An Increment Approach to the HPLC Analysis of Triglycerides. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2002, vol. 36, pp. 392-395. DOI: 10.1023/A:1021004516406.

## References

1. Krisnangkura K., Tancharoon A., Konkao C., Jeyashoke N. An Alternative Method for the Calculation of Equivalent Chain Length or Carbon Number of Fatty Acid Methyl Esters in Gas Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 1997, vol. 35, pp. 329-332. DOI: 10.1093/chromsci/35.7.329.